

IMPORTANCIA DE LOS LÍQUENES COMO BIOINDICADORES AMBIENTALES Y FUENTE PROMISORIA DE COMPUESTOS ANTICÁNCER

IMPORTANCE OF LICHENS AS ENVIRONMENTAL BIOINDICATORS AND PROMISING SOURCE OF ANTI-CANCER COMPOUNDS

Barrales-Cureño, H.J.^{1*}; Reyes-Reyes, C.²; Díaz-Bautista, M.¹; Sánchez-Herrera, L.M.³; Cortés-Ruiz, J.A.⁴; Gómez-de Jesús, A.⁵; López-Valdez, L.G.⁶

¹División de Procesos Naturales, Ingeniería Forestal Comunitaria, Universidad Intercultural del Estado de Puebla, Calle Principal a Lipuntahuaca S/N., Lipuntahuaca, Huehuetla, Puebla. CP. 73475.

²Universidad Politécnica del Valle de Toluca. División de Ingeniería en Biotecnología. Carretera Toluca-Almoloya de Juárez Km. 5.6 Santiaguillo Tlalcalcali, Almoloya de Juárez, Estado de México. C.P. 50904.

³Unidad Tecnológica de Alimentos, Universidad Autónoma de Nayarit, Ciudad Universitaria de la cultura "Amado Nervo", Tepic, Nayarit, México.

⁴Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico de Mazatlán, México.

⁵CONACYT-Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad Autónoma de Chiapas. Carretera Ocozocoautla-Villaflores km. 84.5. Apartado postal # 78, Villaflores, Chiapas; México. C.P. 30470.

⁶Laboratorio de Productos Naturales, Área de Química, Departamento de Preparatoria Agrícola, AP74 Oficina de correos Chapingo, Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México, Texcoco, Texcoco, Estado de México.

***Autor de correspondencia:** hebert.jair@uiiep.edu.mx

RESUMEN

Se han aislado y caracterizado una gran cantidad de productos naturales y biomoléculas a partir de plantas, líquenes, hongos y organismos marinos; en particular, se han extraído más de 110 mil metabolitos secundarios a partir de las plantas. A este respecto, se estima que un número significativo de sustancias será descubierto en los siguientes años, considerando que solo ha sido analizada una proporción baja a partir de las fuentes naturales disponibles. Los líquenes son formas de vida simbiótica estables, los cuales se encuentran conformados por un hongo (micobionte) y hasta dos autótrofos algales y/o cianobacteriales (fotobiontes). A la fecha se han identificado entre 17,500 y 20 mil variantes, incluyendo a 1,500 hongos liquenícolas. Este tipo de organismos tiene la capacidad de sintetizar más de 1000 metabolitos secundarios. Con respecto a su uso medicinal, los líquenes son empleados en el tratamiento de tuberculosis pulmonar, así como vermífida. Igualmente, se toma ventaja de ellos para el control de fiebres, alivio de dolores y expectorante, entre otros. Asimismo, se emplean en el campo de la cosmética y en preparaciones farmacéuticas. Por lo que respecta a su actividad biológica, los líquenes son utilizados como antioxidantes para retrasar el envejecimiento celular, compuesto antiviral en contra del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida y el Virus del Papiloma Humano, y compuesto antibacteriano empleado en la inhibición de bacterias Gram positivas. Igualmente, estos organismos presentan acción antitumoral inhibiendo diferentes tipos de cáncer. Por otra parte, los líquenes se utilizan como biomonitores de la contaminación ambiental. En el presente trabajo se indican los usos terapéuticos y su estatus como bioindicadores de contaminación ambiental.

Palabras clave: metabolitos secundarios, bioprospección, medicinal, uso terapéutico.

ABSTRACT

A large quantity of natural products and biomolecules have been isolated and characterized from plants, lichens, fungi and sea organisms; in particular, more than 110 thousand secondary metabolites have been extracted from plants. In this regard, it is estimated that a significant number of substances will be discovered in the coming years, taking into consideration that only a low proportion has been analyzed from available natural sources. Lichens are stable symbiotic life forms, which are made up by a fungus (mycobiont) and up to two algae autotrophs and/or cyanobacteria autotrophs (photobiont). Up to date, between 17,500 and 20 thousand variants have been identified, including 1,500 lichenicolous fungi. This type of organism has the capacity to synthesize more than 1000 secondary metabolites. With regard to their medicinal use, lichens are used in the treatment of pulmonary tuberculosis and as vermicide. Also, they are used to control fevers, relieve pain, and as expectorant, among others. Likewise, they are used in the field of cosmetics and in pharmaceutical preparations. In relation to their biological activity, lichens are used as antioxidants to delay cell aging; antiviral compound against the Acquired Immunodeficiency Disease Syndrome and the Human Papilloma Virus, and antibacterial compound used in Gram positive bacteria inhibition. Also, these organisms present antitumor action inhibiting different types of cancer. On the other hand, lichens are used as bio monitors of environmental contamination. In this study their therapeutic uses and status as bio indicators of environmental contamination are indicated.

Keywords: secondary metabolites, bio prospection, medicinal, therapeutic use.

azulado (procariotas) y algas verdes unicelulares (eucariotas). Los micobiontes más comunes son hongos ascomicetos. De este estrecho contacto físico e interacción mutualista se originan talos liquénicos estables con morfología, anatomía, fisiología, genética y ecología específicas, los cuales no son más que individuos complejos resultantes de la integración de los simbiontes (holobiontes), que es obligada para los participantes (Barreno y Perez-Ortega, 2003). Los extractos de líquenes son una exitosa alternativa contra el cáncer de seno, colon, próstata, ovario, páncreas y pulmón (Shrestha y Clair, 2013), una de las enfermedades de mayor mortalidad en el mundo. Hay registros de usos medicinales de líquenes en países de África, Europa, Asia, Oceanía, América del Norte y América del Sur (Crawford, 2015). Con respecto al uso medicinal de los líquenes se utilizan especies de *Caldonia* en el tratamiento de la tuberculosis pulmonar, mientras que las especies de *Usnea* se utilizan en Asia, África y Europa para controlar la fiebre y aliviar dolores. Otros como *U. longissima* se utilizan en China como expectorante y los extractos de *U. barbata* se usan actualmente en cosmética y preparaciones farmacéuticas. *Ramalina thrausta* se utiliza en Finlandia externamente para tratar heridas (Ingólfssdóttir, 2002).

Bioindicadores

Un bioindicador es un organismo que manifiesta síntomas particulares en respuesta a cambios medio ambientales, generalmente de manera cuantitativa (Hawksworth et al., 2005). Los líquenes son un excelente bioindicador de la calidad ambiental en las ciudades por contaminación de compuestos químicos peligrosos para la salud humana. Por lo tanto,

INTRODUCCIÓN

Los líquenes son formas de vida simbiótica estables formadas por organismos de dos o tres diferentes reinos biológicos; están constituidos por un hongo (micobionte) y uno o dos autótrofos algales y/o cianobacteriales (fotobiontes) en una unidad morfofisiológica distinta a sus componentes de vida libre (Herrera-Campos et al., 2014). La clasificación y denominación de los líquenes se refiere al hongo (micobionte), de acuerdo con lo establecido en el Código Internacional de Nomenclatura Botánica (CINB). El hongo determina la naturaleza y la forma de la mayoría de los líquenes y produce sus estructuras reproductivas. El número de especies conocidas de líquenes se estima entre 17,500 y 20,000, con cerca de 1,500 hongos liquenícolas (Illana-Esteban, 2012). El 20 % de los hongos conocidos viven en forma liquenizada y 40 % de ellos son ascomicetos. Más de 98 % de los hongos que viven liquenizados pertenecen a la división Ascomycota y el resto a la división Basidiomycota o son hongos mitospóricos (Illana-Esteban, 2012). La mayoría de los liquenizados forman simbiosis con algas verdes, 10 % con cianobacterias y 3 % con algas verdes y cianobacterias (que viven dentro de cefalodios) (Illana-Esteban, 2012). Entre los componentes del líquen y entre este y el ambiente se mantiene un flujo de agua, carbono, nitrógeno y otros elementos esenciales (Herrera-Campos et al., 2014). Los fotobiontes pueden ser cianobacterias de color verde

en el presente trabajo se indican los principales hábitats de crecimiento de los líquenes, sus usos terapéuticos, estatus como bioindicadores de contaminación ambiental y su quimiotaxonomía. Adicionalmente, el trabajo trata sobre sustancias líquénicas y su importancia farmacológica, así como sobre la biosíntesis del ácido úsnico.

Usos terapéuticos de los líquenes

Los géneros comúnmente utilizados en medicina son: *Usnea* en todo el mundo (excepto Australia), *Evernia* y *Pseudevernia* en Europa y Norte de África, *Letharia* en Norteamérica, *Lethariella* en China, *Cetraria* en Europa, *Parmotrema* y *Everniastrum* en India, *Xanthoparmelia* en Norteamérica y África, *Cladonia* y *Cladina* en Norteamérica, Europa y Asia, *Thamnolia* en Asia, *Ramalina* en Norteamérica, Europa y Asia, *Lobaria* y *Peltigera* en Norteamérica, Europa y Asia y *Umbilicaria* en Norteamérica y Asia (Crawford, 2015). Los distintos colores que tienen los líquenes se deben a la acumulación de diversos metabolitos secundarios, llamados sustancias líquénicas o ácidos líquénicos, que son compuestos químicamente complejos. Estos metabolitos son en su mayoría distintos de los que pueden encontrarse en las plantas (Illana-Esteban, 2012) y muchos de ellos tienen propiedades antibióticas y son efectivos contra el ataque de microorganismos (Illana-Esteban, 2012). El ácido úsnico, por ejemplo, es la sustancia líquénica que ocupa la mayor parte de los trabajos de investigación por su marcada acción antitumoral. Estos estudios muestran extensos resultados *in vitro*; otros metabolitos con esta propiedad se identificaron en la especie *Peltigera leucophlebia* y *Collema flaccidum*, dos líquenes muy comunes (Illana-Esteban,

2012). Asimismo, el ácido úsnico se utiliza como ungüento para heridas y quemaduras con mayor efectividad que la penicilina. Otras sustancias líquénicas han sido estudiadas como antibióticos en patologías vegetales (Hur *et al.*, 2004). Los últimos trabajos realizados en el campo de la bioquímica aplicada a las sustancias líquénicas han puesto de manifiesto una posible acción antiviral de estos compuestos. En 1989, Hirabayashi presentó investigaciones sobre la acción inhibitoria del polisacárido GE-3-S sobre el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) en cultivos *in vitro* (Toledo *et al.*, 2004). Experimentos clínicos en pacientes con el Virus del Papiloma Humano (VPH) demostraron que el tratamiento como adyuvante con ácido úsnico reduce la aparición del cáncer cérvico uterino. El cáncer es una de las enfermedades que causa la muerte de millones de personas en todo el mundo existen 100 tipos o variantes de cáncer (Barrales *et al.*, 2016) y, por ejemplo, se han identificado compuestos anticancer, tales como el fármaco taxol en hongos endófitos a partir de árboles de *Taxus* sp. (Barrales y de la Rosa, 2014). Los metabolitos secundarios de los líquenes son fuertemente citotóxicos y tienen la capacidad de detener la proliferación celular de las células cancerosas a concentraciones de micromolar (Einarsdóttir *et al.*, 2010). Es interesante mencionar que la posición de los diferentes grupos funcionales en los compuestos químicos del líquen afecta los niveles de citotoxicidad (Correche *et al.*, 2002). La regulación del ciclo celular es crítica con respecto al control del crecimiento y desarrollo de las células cancerosas. Investigaciones en Estados Unidos demuestran que varios ácidos líquénicos detienen el crecimiento celular del cáncer en la fase sub-G1 (Ren *et al.*, 2009) o en la fase S del ciclo celular (Backorova *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2010). Se ha comprobado que los mecanismos de muerte celular en varias líneas celulares cancerosas causado por los metabolitos secundarios a partir de los líquenes incluyen: apoptosis (Backorova *et al.*, 2011; Bezivin *et al.*, 2004; Russo *et al.*, 2008), necrosis (Einarsdóttir *et al.*, 2010; Russo *et al.*, 2006) e inhibición de la angiogénesis (Koparal *et al.*, 2010). Se conocen más de 1000 metabolitos secundarios producidos en los líquenes, de los cuales únicamente se han identificado 50. Los metabolitos secundarios incluyen: ácidos alifáticos, para y meta-depsidas, depsidonas, bencil ésteres, dibenzofuranos, ácidos úsnicos, xantonas, antraquinonas, terpenoides y ácido pulvínico y sus derivados. La literatura americana y europea identifica los siguientes metabolitos secundarios con actividad probada en el área de citotoxicidad en líneas celulares cancerosas: ácido úsnico probado en carcinoma de ovario humano A2780 cuya citotoxicidad se debió a la inducción de especies reactivas de oxígeno y especies reactivas de nitrógeno; parietina (*X. parietina*) y ácido girofórico (*Umbilicaria hirsuta*) se probó en adenocarcinoma de colon humano, ácido difractaico (*Protousnea magellanica*), vicanicina (*Psoroma pallidum*), ácido lobarico (*Stereocaulon alpium*), ácido variolarico (*Ochrolechia deceptionis*), ácido protoliqueterinico (*Cornicularia aculeate*) y ácido usnico (*Cladonia lepidophthora*), entre otros.

Especies de líquenes estudiados en Perú contienen el ácido úsnico en diferentes proporciones; de ellos, las especies de la familia Parmeliaceae son las que tienen mayor cantidad de ácido úsnico 0,30-0,35 % y los líquenes de otras familias (Siphulaceae, Stereocaulaceae, Cladoniaceae) contienen solamente de 0,07 hasta 0,12 % (Castro, 2010). El ácido úsnico solubilizado

en 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina exhibió actividad anti-proliferativa contra la línea celular maligna K-562 en un ensayo de proliferación estándar de timidina, mostrando una DL_{50} de 4.7 mg ml^{-1} (Kristmundsóttir *et al.*, 2002). En un ensayo de quimioprevención del cáncer diseñado para detectar el potencial inhibitorio de la promoción de tumores se aisló ácido úsnico a partir de *U. longgissima*, mostrando efectos inhibitorios potentes (ED_{50} 1.0 mg ml^{-1}) contra el virus Epstein-Barr en contraste con el ácido úsnico comercial, el cual fue menos activo (ED_{50} 5.0 mg ml^{-1}). En países asiáticos, como la India, Nepal y Bután, utilizan ampliamente a las diversas especies de líquenes en la medicina tradicional para tratar dolor de muelas y de garganta, enfermedades de la piel, enfermedades del hígado, diurético, enfermedades urinarias, llagas y ampollas de la lengua (Illana-Esteban, 2012). En la Figura 1 se muestran las estructuras químicas de los principales metabolitos secundarios de los líquenes.

Líquenes como bioindicadores de contaminación

Para la Organización Mundial de la Salud el aire está contaminado cuando en su composición se encuentran una o varias sustancias extrañas, en cantidades y durante un período de tiempo que las convierte en nocivas para toda forma de vida en el planeta: humano, animales, plantas, entre otros (Méndez y Monge, 2011). Los bioindicadores son organismos que manifiestan síntomas particulares en respuesta a cambios medioambientales, generalmente de manera cuantitativa (Hawksworth *et al.*, 2005). En el siglo XIX los líquenes fueron reconocidos por primera vez como posibles bioindicadores, pero no fue hasta 1960, al ser identificado el dióxido de azufre

(S_2) como el factor principal que influencia el crecimiento, distribución y salud de los líquenes, cuando ocurrió un crecimiento exponencial de los estudios que utilizaban los líquenes como biomonitores. Actualmente se conoce que, además del dióxido de azufre, una amplia gama de otros compuestos (amoníaco, fluoruros, polvo alcalino, metales y metales radioactivos, hidrocarburos clorados), así como la eutrofización y la lluvia ácida, pueden ser detectados y monitorizados utilizando líquenes (Hawksworth *et al.*, 2005). En muchos países europeos y en Estados Unidos se utilizan líquenes para monitorizar los efectos causados por contaminación gaseosa y metales. Hoy en día se les reconoce como bioindicadores de ciertos contaminantes y daños al medio ambiente en zonas templadas (Hawksworth *et al.*, 2005). Las razones por las cuales los líquenes se utilizan con éxito en esta área se basan en que son ubicuos y actualmente se encuentran en aumento en muchos centros urbanos, sobre todo en países desarrollados, gracias a la disminución en la concentración de dióxido de azufre en la atmósfera de las ciudades. También que no poseen una cutícula protectora y absorben nutrientes y contaminantes a través de gran parte de su superficie. Que por su naturaleza simbiótica, si cualquiera de los simbioses se ve afectado por algo, ambos organismos mueren. Son relativamente longevos, permaneciendo expuestos al efecto nocivo por largos períodos, por lo que proporcionan una imagen de estados crónicos y no de variaciones puntuales del medio ambiente, y por ser organismos perennes que pueden ser muestreados durante todo el año (Hawksworth *et al.*, 2005). Los líquenes absorben el dióxido de azufre, del cual retienen aproximadamente

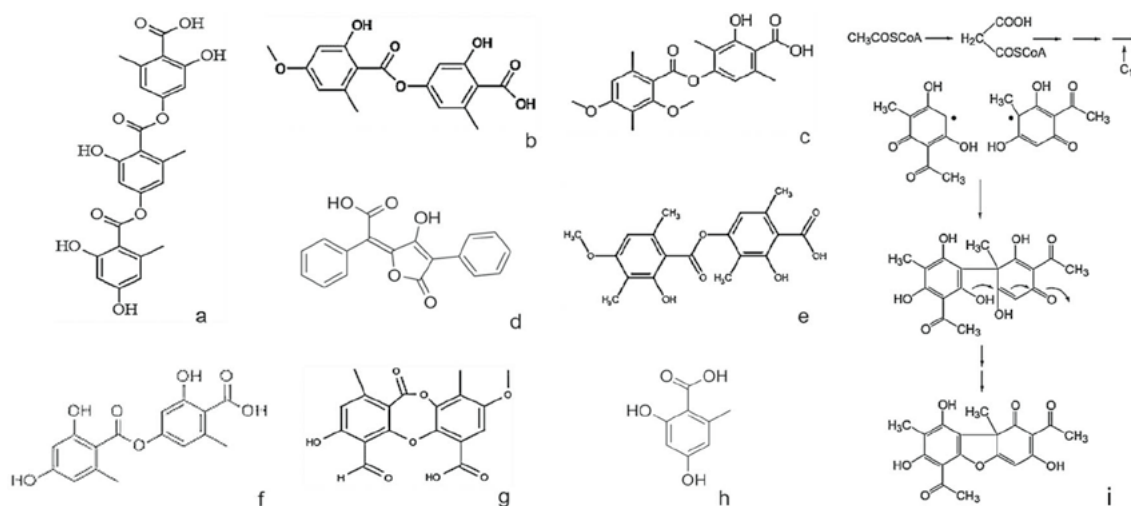


Figura 1. Estructuras químicas de metabolitos secundarios especializados en el género *Usnea*. a) ácido girofórico; b) ácido evérnico; c) ácido difractaico; d) ácido pulvínico; e) ácido barbático; f) ácido lecanórico; g) ácido psorómico; h) ácido orselínico y i) Ruta de biosíntesis del compuesto químico anticancerígeno: ácido úsnico.

30 %. Por repetidas exposiciones al dióxido de azufre el líquen acumula altos niveles de sulfatos y bisulfatos, los cuales lo incapacitan para realizar funciones tales como fotosíntesis, respiración y en algunos casos fijación de nitrógeno. Esto ocasiona la deformación de la estructura del talo y eventualmente su muerte. Un nivel anual de 8-30 $\mu\text{g m}^{-3}$ de sulfuro produce la deformación o la muerte de especies líquénicas sensibles. Los efectos fisiológicos sobre el líquen al exponerlo a óxidos de nitrógeno son similares a los de exposición a dióxidos de azufre, ya que un nivel anual de 564 $\mu\text{g m}^{-3}$, o mayor, de óxidos de nitrógeno, puede resultar en la decoloración, deformación y en la muerte del líquen (Froehlich, 2006). El Cuadro 1 muestra la relación entre los diferentes tipos de líquen y la contaminación ambiental con dióxido de azufre.

Algunos metales que se han localizado en las células de los líquenes son: aluminio (Al), arsénico (As), boro (B), cadmio (Cd), calcio (Ca), cromo (Cr), cobre (Cu), hierro (Fe), plomo (Pb), magnesio (Mg), manganeso (Mn), mercurio (Hg), níquel (Ni), fósforo (P), potasio (K), sodio (Na), azufre (S) y zinc (Zn) (Méndez y Monge, 2011).

CONCLUSIONES

Los extractos líquénicos son una exitosa alternativa contra el cáncer (seno, colón, próstata, ovario, páncreas y pulmón), una de las enfermedades de mayor mortalidad en el mundo. Se recomiendan realizar cultivos *in vitro* de líquenes, purificación de enzimas implicadas en los procesos de síntesis, transformación y expresión de los genes responsables del ácido úsnico y metabolitos relacionados, así como el cultivo en biorreactores para sobreexpresar la producción de ácido úsnico. La FAO reconoce que la medicina tradicional es utilizada por 80 % de la población en el Mundo, de tal forma que los líquenes son consumidos ampliamente en diversas regiones por su inocuidad y capacidad contra diversas enfermedades. A nivel ambiental, son excelentes bioindicadores de la calidad ambiental de las ciudades, por lo que se perfilan como íconos de salud, seguridad y calidad ambiental.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el nombramiento de Candidato a Investigador por el Sistema Nacional de In-

vestigadores (SNI) del primer autor y a la Universidad Intercultural del Estado de Puebla por el apoyo para realizar la presente investigación.

LITERATURA CITADA

Asahina Y., Shibata S. 1954. Chemistry of lichen substances, Japan Society for the Promotion of Science. Tokyo, Japón. 240 p.

Backorova M., Backor M., Mikes J., Jendzelovsky R., Fedorocko P. 2011. Variable responses of different human cancer cells to the lichen compounds parietin, atranorin, usnic acid and gyrophoric acid. *Toxicology in vitro* 25: 37-44.

Barrales-Cureño H.J., De la Rosa M.R. 2014. Uso de hongos endófitos para la producción del fármaco anti-cáncer taxol. *Biotecnología Vegetal* 14(1): 3-13.

Barrales-Cureño H.J., Farrera R.A., Reyes R.C., Hernández F.I.Y., García A.E., Chávez S.S. 2016. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana* 16(1): 75-91.

Barreno E., Pérez-Ortega S. 2003. *Biología de los líquenes*. Consejería de Medio Ambiente, Ordenación del Territorio e Infraestructuras del Principado de Asturias y KRK ediciones. 65-82.

Bezivin C., Tomasi S., Rouaud I., Delcros J.G. Boustie J. 2004. Cytotoxic activity of compounds from the lichen: *Cladonia convoluta*. *Planta Medica* 70: 874-877.

Castro M.O.N. 2010. Aislamiento del ácido úsnico de y su determinación cuantitativa por espectroscopia UV, en diez líquenes. *Revista de la Sociedad Química del Perú* 76(4): 389-399.

Castro M.O., Pastor A.A., Collantes D.I.E. 2011. Aislamiento de ácido úsnico y parietina de *Caloplaca saxicola* Hoffm. *Revista de la Sociedad Química del Perú* 77(2): 152-161.

Cocchietto M., Skert N., Nimis P.L., Sava G. 2002. A review on usnic acid, an interesting natural compound. *Naturwissenschaften*. 89(4): 137-146.

Correché E., Carrasco M., Giannini F., Piovano M., Garbarino J., Daniel E. 2002. Cytotoxic screening activity of secondary lichen metabolites. *Acta Farm Bonaer* 21: 273-278.

Crawford D. 2015. *Lichens Used in Traditional Medicine* Stuart. Springer International Publishing Switzerland B. Rankovic (ed.), *Lichen Secondary Metabolites*.

Einarsdóttir E. 2010. Cellular Mechanisms of the Anticancer Effects of the Lichen Compound Usnic Acid. *Planta Medica* 76 (10): 969-974.

Einarsdóttir E., Groeneweg J., Bjornsdóttir G.G., Harethardóttir G., Omarsdóttir S., Ingólfssdóttir K., Ogmundsdóttir H.M. 2010. Cellular mechanisms of the anticancer effects of the lichen compound usnic acid. *Planta Medica* 76: 969-974.

Froehlich A. 2006. A look at Willamette valley air quality using lichen communities as bioindicators. *Research Based Learning* 49: 377-389.

Cuadro 1. Relación entre tipos de líquen y contaminación.

Tipo de líquen		Calidad del aire	Cantidad de SO ₂ (mg m ³⁻¹)
Ausencia de líquenes		Extremadamente contaminado	>170
Sin líquenes		Muy contaminado	150-170
Presencia de líquenes	Crustáceos	Bastante contaminado	125
	Foliáceos	Poco contaminado	30-70
	Fruticosos	Muy poco contaminado	<30
	Filamentosos	Sin contaminación	0

- Hawksworth L D., Iturriaga T., Crespo A. 2005. Líquenes como bioindicadores inmediatos de contaminación y cambios medio-ambientales en los trópicos Revista Iberoamericana de Micología 22: 71-82.
- Herrera-Campos M.A., Lücking Robert., Pérez-Pérez R.E., Miranda-González R., Sánchez N., Barcenás-Peña A., Carrizosa A., Zambrano A, Ryan B.D., Nash H.T. 2014. Biodiversidad de líquenes en México. Revista Mexicana de Biodiversidad 85: 82-99.
- Hur J.S., Harada H., Oh S.O., Lim K.M., Kang E.S., Lee S.M., Kahng H.Y., Kim H.W., Jung J.S., Koh Y.J. 2004. Distribution of Lichen Flora on South Korea Journal Microbiology 42(2): 163-167.
- Illana-Esteban C. 2012. Líquenes usados en medicina tradicional. Boletín de Sociedad Micológica de Madrid 36: 163-174.
- Ingólfssdóttir. K. Usnic acid. 2002. Phytochemistry 61(7): 729-736.
- Koparal A.T., Ulus G., Zeytinoğlu M., Tay T., Türk A.O. 2010. Angiogenesis inhibition by a lichen compound olivetoric acid. Phytotherapy Research 24(5): 754-758.
- Kristmundsdóttir T., Aradóttir H.A.E., Ingólfssdóttir K., Ogmundsdóttir H.M. 2002. Solubilization of the lichen metabolite (+)-usnic acid for testing in tissue culture Journal of Pharmacy and Pharmacology 54(11): 1447-1452.
- Méndez V.H., Monge N.J. 2011. El uso de líquenes como biomonitores para evaluar el estado de la contaminación atmosférica a nivel mundial. Biocenosis 25(2): 51-67.
- Russo A., Piovano M., Lombardo L., Vanella L., Cardile V., Garbarino J. 2006. Pannarin inhibits cell growth and induces cell death in human prostate carcinoma DU-145 cells. Anticancer Drugs 17(10): 1163-1169.
- Russo A., Piovano M., Lombardo L., Garbarino J., Cardile V. 2008. Lichen metabolites prevent UV light and nitric oxide-mediated plasmid DNA damage and induce apoptosis in human melanoma cells. Life Sciences 83: 468-474.
- Shrestha G., Clair L.L.S. 2013. Lichens: a promising source of antibiotic and anticancer drugs. Phytochem Rev. 12: 229-244.
- Toledo F.J., García A., León F., Bermejo J. 2004. Ecología química en hongos y líquenes, Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales 28 (109): 509-528.
- Yamamoto Y., Mizuguchi R., Yamada Y. 1985. Tissue-cultures of *Usnea rubescens* and *Ramalina yasudae* and production of usnic acid in their cultures. Agricultural and Biological Chemistry 49, 3347-3348.

